

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG VI SINH VẬT ĐỂ CHẾ BIẾN BÃ THẢI RONG CÂU LÀM THỨC ĂN CHĂN NUÔI

Đỗ Quang Huy, Trịnh Thị Phượng

Ngô Thị Thùy Dương, Đỗ Thị Quỳnh Chi

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

1. Đặt vấn đề

Rong Câu là loài tảo sống ở biển có chứa nhiều chất dinh dưỡng. Sau khi chiết tách agar, phần bã thải Rong Câu còn chứa một lượng nhất định các chất dinh dưỡng, chẳng hạn các protein và các chất khoáng. Nếu tận dụng bã thải này làm thức ăn chăn nuôi có thể sẽ là nguồn cung cấp một số chất dinh dưỡng cho vật nuôi. Bên cạnh đó, việc nghiên cứu tận dụng bã thải Rong Câu làm thức ăn chăn nuôi cũng sẽ góp phần hạn chế ô nhiễm môi trường do chính bã thải này gây ra. Với ý nghĩa đó việc nghiên cứu tận dụng bã thải Rong Câu làm thức ăn chăn nuôi là một trong những hướng đi cần được đầu tư nghiên cứu và triển khai ứng dụng.

Trong bài báo này sẽ đưa ra kết quả xác định một số đặc tính lý hoá của bã thải Rong Câu; các kết quả xác định môi trường thích hợp có chứa bã thải Rong Câu nhằm tăng khả năng sinh trưởng của các tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* và *Candida utilis* trong quá trình thu nhận sinh khối; trong đó chỉ ra các yếu tố ảnh hưởng như nguồn dinh dưỡng cacbon, nhiệt độ và pH. Trong bài báo này cũng nêu ra các kết quả thử nghiệm sử dụng thức ăn chăn nuôi được tạo ra từ bã thải Rong Câu đối với gà Tam Hoàng 882.

2. Thực nghiệm

1. Đối tượng nghiên cứu. Bã thải Rong Câu được lấy từ xưởng sản xuất agar thuộc Công ty TNHH Hoàng Yến, Hải Phòng và một số nguyên liệu khác như cám ngô, cám gạo, premix khoáng, premix vitamin,... Sản phẩm thức ăn chăn nuôi tạo ra từ bã thải Rong Câu được thử nghiệm trên gà Tam Hoàng 882 đã được 35 ngày tuổi, có tỷ lệ trống mái và có trọng lượng tương đối đồng đều.

2. Chủng vi sinh vật nghiên cứu. Nấm men *S. cerevisiae* và *C. utilis* do Quĩ gen, Bộ môn Vi sinh vật, Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam cung cấp.

3. Thực nghiệm

3.1. Xác định đặc tính hoá lý của bã thải Rong Câu. Độ ẩm của bã thải Rong Câu được xác định bằng phương pháp trọng lượng. Mẫu được sấy khô ở 105°C đến trọng lượng không đổi. Độ ẩm của mẫu là tỉ lệ phần trăm giữa trọng lượng mẫu bị mất sau khi sấy khô ở 105°C so với trọng lượng mẫu ban đầu. Ngâm bã thải trong dung dịch KCl 1M khoảng 24 giờ, sau đó xác định giá trị pH của dịch ngâm.

Lượng nitơ tổng số trong bã thải Rong Câu được xác định bằng phương pháp Kjeldahl. Mẫu được vô cơ hoá bằng H_2SO_4 98% với xúc tác là hỗn hợp K_2SO_4 và $CuSO_4$. Thực hiện xác định lượng nitơ tổng số trong dịch thu được từ quá trình chưng cất đậm.

Bã thải Rong Câu vô cơ hoá được dùng để xác định hàm lượng Ca và P. Vô cơ hoá bã thải Rong Câu ở $600^\circ C$ trong 4 giờ, hoà tan phần còn lại trong HCl 1% để xác định Ca và P. Ca được xác định bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử; P được xác định bằng phương pháp quang so màu. Mẫu nung ở $600^\circ C$ trong 4 giờ cũng được dùng để tính lượng khoáng tổng trong bã thải Rong Câu.

3.2. Nghiên cứu chuyển hoá bã thải Rong Câu bởi các vi sinh vật. Một số yếu tố như nguồn dinh dưỡng cacbon, nhiệt độ và pH được tập trung nghiên cứu nhằm đánh giá mức độ ảnh hưởng của chúng đến khả năng sinh trưởng của các chủng nấm men.... Trong đó đánh giá ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng cacbon thông qua việc nuôi cấy nấm men trong môi trường Hansen chuẩn; môi trường Hansen thay thế 50% và 100% glucoza bằng lượng rỉ đường tương ứng. Sau 2 ngày nuôi cấy, kiểm tra sự sinh trưởng của nấm men bằng cách đếm trực tiếp số khuẩn lạc có trên thạch đĩa. Mật độ vi sinh vật được xác định bằng phương pháp Koch.

Nấm men sau khi nhân giống cấp một được cấy trên thạch đĩa bằng phương pháp đóng dấu và duy trì cấy ở các nhiệt độ $25^\circ C$, $28-30^\circ C$, $37^\circ C$ và $45^\circ C$. pH của môi trường nuôi cấy cũng được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của nó đến sự sinh trưởng của nấm men. Theo đó, nấm men được nuôi cấy trong môi trường Hansen chuẩn có dung dịch đệm Mc. Ilvaine với pH bằng 4,0; 4,6; 5,0; 5,6; 6,0; 6,6; 7,0; 7,6 và 8,0. Đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và pH đến khả năng sinh trưởng của nấm men bằng cách quan sát sự sinh trưởng của khuẩn lạc.

Đã áp dụng phương pháp lên men xộp để chế biến bã thải Rong Câu làm thức ăn chăn nuôi trong các điều kiện môi trường nghiên cứu đã xác định. Tỷ lệ phối trộn tạo mẫu nuôi cấy nấm men bao gồm: 5 kg bã thải Rong Câu, 40ml rỉ đường, 1g NaCl, 50ml dịch nuôi cấy nấm men *S. cerevisiae* và 50 ml dịch nuôi cấy nấm men *C. utilis*. Ủ hỗn hợp này ở khoảng nhiệt độ $25-28^\circ C$ trong các chậu nhựa lớn. Thường xuyên theo dõi sự biến đổi của các yếu tố như pH, lượng protein, lượng khoáng tổng, Ca, P và sự biến động của quần thể vi sinh vật.

3.3. Thử nghiệm sử dụng bã thải Rong Câu đã lên men trong chăn nuôi. Bã thải Rong Câu sau khi ủ lên men được phối trộn với một số nguyên liệu khác như cám ngô, cám gạo, premix khoáng, premix vitamin,... để làm thức ăn chăn nuôi. Tỷ lệ phối trộn phụ thuộc vào giá trị dinh dưỡng của từng thành phần nguyên liệu và theo Tiêu chuẩn Việt Nam số 2265 năm 1994 về thức ăn hỗn hợp cho gà. Hỗn hợp thức ăn được tạo viên và sấy ở nhiệt độ $50^\circ C$. Thức ăn hỗn hợp được thử nghiệm trên giống gà Tam Hoàng 882 đã được 35 ngày tuổi. Trong quá trình thử nghiệm, gà được cân trọng lượng thường kỳ và được cho ăn cùng một lượng thức ăn. Đánh giá sử dụng bã thải

Rong Câu đã ủ lên men làm thức ăn cho gà được thực hiện trên 4 lô thí nghiệm; mỗi lô thí nghiệm cho ăn một khẩu phần thức ăn khác nhau.

3. Kết quả và thảo luận

Khả năng sinh trưởng của các chủng nấm men *S. cerevisiae* và *C. utilis* bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như nhiệt độ, pH và nguồn dinh dưỡng cacbon. Kết quả thu được từ thực nghiệm cho thấy cả hai chủng nấm men *S. cerevisiae* và *C. utilis* trong môi trường Hansen chuẩn đều có khả năng sinh trưởng tốt trong khoảng nhiệt độ từ 25-30°C; sinh trưởng mạnh nhất trong khoảng nhiệt độ từ 28-30°C (bảng 1). Mặc dù ở khoảng nhiệt độ 28-30°C các nấm men *S. cerevisiae* và *C. Utilis* sinh trưởng mạnh nhất, nhưng khi thay đổi pH của môi trường nuôi cấy thì khả năng sinh trưởng của hai loại nấm men này cũng bị ảnh hưởng.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng của các chủng nấm men

Chủng nấm men	Sinh trưởng của các chủng nấm men ở nhiệt độ nuôi cấy khác nhau			
	250C	28 - 300C	370C	450C
<i>S. cerevisiae</i>	++	+++	+	-
<i>C. utilis</i>	++	+++	++	+

+++ : Sinh trưởng tốt; ++ : Sinh trưởng bình thường; + : Sinh trưởng yếu; - : Không Sinh trưởng

Kết quả thực nghiệm chỉ ra rằng với khoảng nhiệt độ đã chọn, các nấm men nghiên cứu sinh trưởng tốt nhất ở pH môi trường từ 5,0 - 6,6. Khi pH môi trường nuôi cấy nhỏ hơn 4,0 hoặc lớn hơn 7,6 thì không thấy xuất hiện hoặc xuất hiện khuẩn lạc rất yếu (bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng của các chủng nấm men (ở khoảng nhiệt độ 28-30°C)

VSV \ pH	4,0	4,6	5,0	5,6	6,0	6,6	7,0	7,6	8,0
	<i>S. cerevisiae</i>	+	++	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>C. utilis</i>	+	++	+++	+++	+++	+++	++	-	-

+++ : Sinh trưởng tốt; ++ : Sinh trưởng bình thường; + : Sinh trưởng yếu; - : Không Sinh trưởng.

Với điều kiện nhiệt độ 28-30°C , pH môi trường nuôi cấy là 6,0 và nguồn dinh dưỡng cacbon cũng gây ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của các chủng nấm men nghiên cứu. Từ kết quả bảng 3 cho thấy, trong môi trường Hansen và môi trường Hansen có thay thế một phần tương ứng bằng rỉ đường thì cả hai loại chủng nấm men đều có khả năng sinh trưởng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng cacbon đến sự sinh trưởng triển của các chủng nấm men (ở khoảng nhiệt độ 28-30°C và pH =6,0)

Chủng nấm men	Mật độ tế bào nấm men trong các môi trường nuôi cấy (CFU/ml)		
	Môi trường 1	Môi trường 2	Môi trường 3
<i>S. cerevisiae</i>	3,35.10 ⁸	9,04.10 ⁷	1,53.10 ⁶
<i>C. utilis</i>	3,05.10 ⁸	8,59.10 ⁷	1,04.10 ⁶

Môi trường 1: Môi trường Hansen; Môi trường 2: Môi trường 1 thay thế 50% glucoza bằng 50% rỉ đường; Môi trường 3: Môi trường 1 thay thế 100% glucoza bằng rỉ đường.

Mật độ tế bào nấm men trong môi trường Hansen và môi trường Hansen đã thay thế một phần tương ứng bằng rỉ đường có sự sai khác không đáng kể. Các kết quả nêu trong bảng 3 cho thấy, nấm men có khả năng sinh trưởng trong môi trường có nguồn dinh dưỡng cacbon là glucoza hoặc môi trường có sự thay thế 50% glucoza bằng một lượng rỉ đường tương ứng. Tuy nhiên, trong điều kiện sản xuất, có thể lựa chọn rỉ đường làm cơ chất cho quá trình lên men, bởi vì khi thay thế glucoza bằng 100% rỉ đường thì mật độ tế bào nấm men trong các môi trường nuôi cấy cũng đạt tới 1,53.10⁶ CFU/ml.

Bảng 4. Biến động số lượng tế bào nấm men trong quá trình thu nhận sinh khối

Chủng nấm men	Số lượng tế bào nấm men sau các ngày nuôi cấy (CFU/ml)						
	Ban đầu	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
<i>S. cerevisiae</i>	1,02.10 ⁵	2,45.10 ⁶	3,80.10 ⁸	2,10.10 ⁸	1,90.10 ⁸	8,03.10 ⁷	1,48.10 ⁶
<i>C. utilis</i>	2,50.10 ⁵	4,06.10 ⁶	5,50.10 ⁸	4,85.10 ⁸	3,20.10 ⁸	2,45.10 ⁷	1,76.10 ⁶

Sự biến đổi số lượng tế bào nấm men trong quá trình thu nhận sinh khối cũng đã được nghiên cứu. Trong điều kiện nghiên cứu tối ưu đã lựa chọn, sự sinh trưởng của các chủng nấm men tuân theo một qui luật chung, đó là sự tăng dần số lượng tế bào nấm men trong giai đoạn đầu nuôi cấy nấm men và đạt được giá trị cao nhất ở thời điểm sau 2 ngày, sau đó ổn định và suy giảm (bảng 4). Như vậy, thời điểm thích hợp để thu nhận sinh khối tế bào và bổ sung nguồn cơ chất để thực hiện quá trình ủ lên men là sau 2 ngày nuôi cấy nấm men.

Các điều kiện tối ưu có tác động đến sự sinh trưởng tốt nhất của các chủng nấm men được sử dụng để chế biến bã thải Rong Câu. Bã thải Rong Câu trước khi ủ men đã được phân tích một số chỉ tiêu hoá lý. Kết quả phân tích bã thải Rong Câu trước khi ủ men có pH bằng 6,9; độ ẩm 75,02%; lượng protein chiếm 3,15%; lượng khoáng tổng chiếm 3,00%; lượng Ca và P tương ứng trong 100g mẫu là 0,183mg và 0,11mg. Với kết quả này cho thấy trong bã thải Rong Câu vẫn còn chứa một lượng nitơ nhất định và các chất khoáng cần thiết cho việc sản xuất thức ăn chăn nuôi.

Bên cạnh đó bã thải Rong Câu giàu nguồn dinh dưỡng cacbon, do vậy bã thải này là môi trường tốt để tồn tại và phát triển các loài vi sinh vật như nấm men, nấm mốc, vi khuẩn và xạ khuẩn. Khi ủ lên men, quần thể vi sinh vật có sự biến đổi rõ rệt, bảng 5. Sau 2 ngày ủ lên men, số lượng tế bào nấm men tăng lên, nhưng số lượng nấm mốc, số lượng tế bào vi khuẩn và xạ khuẩn lại giảm. Do đó sau 2 ngày ủ lên men là thời điểm thích hợp để thu nhận sinh khối nấm men bổ sung vào khẩu phần ăn chăn nuôi.

Bảng 5. Biến đổi quần thể vi sinh vật trước và sau khi ủ lên men bã thải Rong Câu

Loại vi sinh vật	Mật độ vi sinh vật (CFU/g)							
	Ban đầu		1 ngày		2 ngày		3 ngày	
	ĐC	TN	ĐC	TN	ĐC	TN	ĐC	TN
Nấm men	2,05.103	1,86.106	5,63.103	3,45.107	3,03.104	5,65.108	9,12.104	4,12.108
Nấm mốc	2,82.103	3,52.103	6,84.104	4,52.102	7,45.105	1,50.102	2,19.106	1,52.102
Vi khuẩn	8,50.103	6,54.103	8,75.104	6,00.102	2,14.104	-	6,68.105	-
Xạ khuẩn	3,45.102	2,10.102	5,02.102	-	6,75.103	-	8,02.103	-

ĐC: Mẫu đối chứng (không ủ men); TN: Mẫu thử nghiệm (có ủ men).

Bã thải Rong Câu khi ủ lên men có tính chất hoá lý thay đổi theo thời gian, trong đó lượng nitơ tổng số có sự thay đổi rõ rệt và đạt cực đại sau 2 ngày ủ men (bảng 6). Sở dĩ có như vậy là vì các tế bào nấm men trong quá trình sinh trưởng đã sử dụng cơ chất có sẵn trong mẫu ủ lên men để tạo ra sinh khối tế bào, dẫn đến làm tăng hàm lượng protein của mẫu; hàm lượng protein tổng số cao nhất nhận được sau 2 ngày ủ lên men. Đây có thể là nguồn cung cấp chất dinh dưỡng bổ sung vào bã thải Rong Câu để làm thức ăn chăn nuôi.

Bảng 6. Một số hoá lý của bã thải Rong Câu sau khi ủ lên men (tính theo trọng lượng mẫu khô)

Các thông số	Đơn vị	Ban đầu	1 ngày	2 ngày	3 ngày
pH		6,0	5,5	5,0	5,0
Độ ẩm	%	80,5	81,0	80,2	80
Nhiệt độ mẫu khi ủ men	0C	26	28	30	30
Lượng protein tổng số	%	3,44	4,10	5,02	5,00
Lượng khoáng tổng số	%	3,55	3,62	3,71	3,70
Ca	mg/100g	0,5	0,52	0,55	0,55
P	mg/100g	0,23	0,35	0,4	0,39

Dựa trên kết quả nghiên cứu tại bảng 6 và Tiêu chuẩn Việt Nam số 2265 năm 1994 về thức ăn hỗn hợp cho gà để đưa ra các công thức phối trộn giữa bã thải Rong Câu sau khi ủ lên men với các thành phần thức ăn khác theo tỉ lệ khác nhau để làm thức ăn cho gà (bảng 7).

Bảng 7. Công thức khẩu phần thức ăn hỗn hợp cho gà có bã thải Rong Câu ủ lên men

Nguyên liệu	Tỉ lệ phối trộn trong thức ăn hỗn hợp cho gà (%)			
	Khẩu phần 1	Khẩu phần 2	Khẩu phần 3	Khẩu phần 4
Bã thải Rong Câu ủ lên men	0	10	20	30
Bột ngô	35	35	35	35
Cám gạo	25	25	25	25
Bột xương	4	2,5	2	1,5
Bột cá Hạ Long loại I	14	10	8	4
Premix khoáng	1	0,75	0,5	1,25
Premix vitamin	1	0,75	0,5	0,25
Bột đỗ tương	20	16	15	4
Tổng cộng	100	100	100	100

Các khẩu phần thức ăn hỗn hợp cho gà nêu trong bảng 7 được đánh giá thử nghiệm trên gà Tam Hoàng 882. Kết quả thử nghiệm trong chăn nuôi gà được chỉ ra trong bảng 8. Trong đó, lô thử nghiệm Đối chứng cho ăn khẩu phần 1; lô TN1 cho ăn khẩu phần 2; lô TN2 cho ăn khẩu phần 3; lô TN3 cho ăn khẩu phần 4.

Bảng 8. Trọng lượng gà tăng trung bình trong thời gian thử nghiệm

Lô thử nghiệm	Trọng lượng gà trung bình trong thời gian thí nghiệm (gam)				Trọng lượng tăng trung bình (%)
	Ban đầu	Sau 2 tuần	Sau 4 tuần	Sau 6 tuần	
Đối chứng	880	1400	1750	2200	60
TN1	850	1350	1700	2100	59,5
TN2	750	1050	1450	1700	55,89
TN3	820	1000	1200	1450	43,4

Từ kết quả bảng 8 cho thấy, trọng lượng gà tăng trung bình cao nhất ở lô TN1 khi cho ăn khẩu phần 2 có 10% bã thải Rong Câu ủ lên men. Sau 2 tuần gà bắt đầu quen và thích nghi với thức ăn có bổ sung bã thải Rong Câu ủ lên men nên mức độ tăng trọng lượng lô TN1 và lô đối chứng tương đối giống nhau.

Chênh lệch trọng lượng theo thời gian của gà trong lô TN2 và TN3 thấp hơn so với lô TN1 và lô đối chứng. Như vậy, bã thải Rong Câu ủ lên men có thể thay thế một phần trong khẩu phần thức ăn chăn nuôi gà, và nếu bổ sung 10 đến 20 % bã thải Rong Câu ủ lên men vào thức ăn chăn nuôi gà thì mức độ tăng trọng lượng của gà là cao nhất.

4. Kết luận

Từ những kết quả nghiên cứu thấy rằng, có thể sử dụng vi sinh vật trong chế biến bã thải Rong Câu làm thức ăn chăn nuôi gà. Bã thải Rong Câu sử dụng làm thức ăn chăn nuôi gà khi đã được ủ lên men. Hai chủng nấm men *S. cerevisiae* và *C. utilis* sinh trưởng tốt trong môi trường bã thải Rong Câu có pH từ 6,0 và ở nhiệt độ 28-30°C. Bã thải Rong Câu sau khi ủ lên men 2 ngày có lượng khoáng tổng tăng đến 3,71%; lượng protein tăng đến 5,02%; và lượng nấm men tăng đến $5,65.10^8$ CFU/g. Nấm men *S. cerevisiae* và *C. utilis* có khả năng ức chế sự phát triển của các vi sinh vật khác như nấm mốc, vi khuẩn, xạ khuẩn. Khi thay thế 10 đến 20% bã thải Rong Câu đã ủ lên men vào thức ăn chăn nuôi, gà ăn thức ăn này có trọng lượng cơ thể tăng tương đương gà ăn thức ăn không có bã thải Rong Câu đã ủ lên men. Như vậy bã thải Rong Câu đã ủ lên men có thể sử dụng để thay thế một phần thức ăn chăn nuôi gà, nhưng vẫn đảm bảo cho gà sinh trưởng và phát triển bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lân Dũng, Bước đầu nghiên cứu một số loại nấm men phân lập ở Việt Nam và khả năng sử dụng chúng trong chăn nuôi, *Tạp chí khoa học Kỹ thuật nông nghiệp*, **10**(1969), tr.663-668.
2. Hoàng Cường, Lâm Ngọc Trâm, Phan Phương Lan, Thành phần hoá học của rong biển Hải Phòng, *Tuyển tập nghiên cứu biển*, Tập II, 1980, tr.31-32.
3. Lâm Ngọc Trâm, Các chất dinh dưỡng có trong rong biển và tiềm năng của nó trong chăn nuôi, *Tạp chí Nông nghiệp Công nghiệp thực phẩm*, số **371**(1993), tr.186-187.
4. Zu J. and Zhang M.Q., SCPD, A promoter of Yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Bioinformatics*, **15**(1999), p.607-611.

VNU. JOURNAL OF SCIENCE, Nat., Sci., & Tech., T.XXII, N_o1, 2006

RESEARCH ON USING MICROORGANISMS IN PROCESSING GRACILARIA WASTE FOR MAKING LIVESTOCK FOOD

Do Quang Huy, Trinh Thi Phuong, Ngo Thi Thuy Duong, Do Thi Quynh Chi
College of Science, VNU

The paper shows that it is possible to use microorganisms in processing Gracilaria waste collected from the production of Agar for making chicken food. After fermentation, the Gracilaria waste is used to make chicken food. Two yeast strains *S. cerevisiae* and *C. utilis* grow well in medium of Gracilaria waste in pH = 6.0 and temperature from 28 to 30°C. Two days after fermentation, the total amount of mineral, protein, and yeast has increased up to 3.71%, 5.02%, and $5.65.10^8$ CFU/g, respectively. *S. cerevisiae* and *C. utilis* yeast have the ability to restrict the growth of other microorganisms such as molds, bacteria and actinomycetes. When changing from 10 to 20% fermented Gracilaria waste in livestock food, the weight of chickens eating this food has increased equally to that of chickens eating the food that has no fermented Gracilaria waste. Thus, fermented Gracilaria waste can be used to replace a part of chicken food, ensuring the normal growth of chickens.